LITERATUR

Bamatter, F., Suter, E., Leuenberger, M. und Roth, W. Schweiz. Zschr. f. Path. und Bakt., *11*, 531 (1948). — Binkhorst, C. D. Leiden (1948). — Biocca, E. Riv. Parasitol., *10*, 73 (1949). — Blanc, G., Bruneau, J. und Chabeaud, A. Ann. Inst. Pasteur, Paris, *78*, 277 (1950). — Christiansen, M. Medlemsblad f. den. Danske Dyrlaegeforening, *31*, (1948). — Fankhauser, R. Med. und Hyg., *165*, (1950); Schweiz. Arch f. Tierhk., *92*, 217 (1950); Schweiz. Arch. f. Tierhk., *93*, 12 (1951). — Franca, C. Jorn. Sci. Mat., Fis. e. Nat., Akad. Sci. Lisboa, *1*, 26 (1917). — Jones, I. A. J. of Inf. Dis., *87*, 78 (1950)· — Meyer, H. und Roth, W. Schweiz. Zschr. f. Path. und Bakt. *12*, 513 (1949). — Otten, E., Westphal, A. und Kajahn, R. Klin. Wschr. (im Druck). — Otten, E., Piekarski, G. und Westphal. A. DTW., *58*, 24 (1951). — Perrin, Th. L., Brigham, G. und Pickens, E. G. J. Inf. Dis., *72*, 91 (1943). — Piekarski, G. Zbl. Bakter. Orig., *155*, 375 (1950). — Roth, W. und Fritz, W. Schweiz. Zschr. f. Path. und Bakt., *13*, 624 (1950). — Sabin, A. B. Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., *41*, 75 (1939); Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., *51*, 1 (1942). — Splendore, A. Bull. Soc. Path. Exot., *2*, 462 (1909).

Nº 21. **J. Rickenbacher.** — Die Nukleinsäuren in der Augenentwicklung bei Amphibien. (Mit 2 Abbildungen.)

Anatomisches Institut der Universität Zürich.

Caspersson und Thorell (1941) haben beim Hühnerembryo in verschiedenen Organen festgestellt, dass der Gehalt der Zellen an Ribosenukleinsäure (RNS) im Moment des intensivsten Wachstums ein Maximum erreicht, um sich wieder zu vermindern, wenn die Differenzierung einsetzt. Brachet hat bei Amphibien ähnliche Befunde erhoben. Die genannten Forscher haben schon frühzeitig die Vermutung ausgesprochen, dass die RNS irgendwie mit der Proteinsynthese in Zusammenhang stehe. Eingehende quantitative

Untersuchungen, in neuerer Zeit vor allem durch NOVIKOFF und POTTER (1948), haben dieser Vermutung eine solidere Grundlage gegeben, indem sie zeigten, dass das Maximum des RNS-Gehaltes mit dem Maximum des Eiweissaufbaues in der Zelle zusammenfällt.

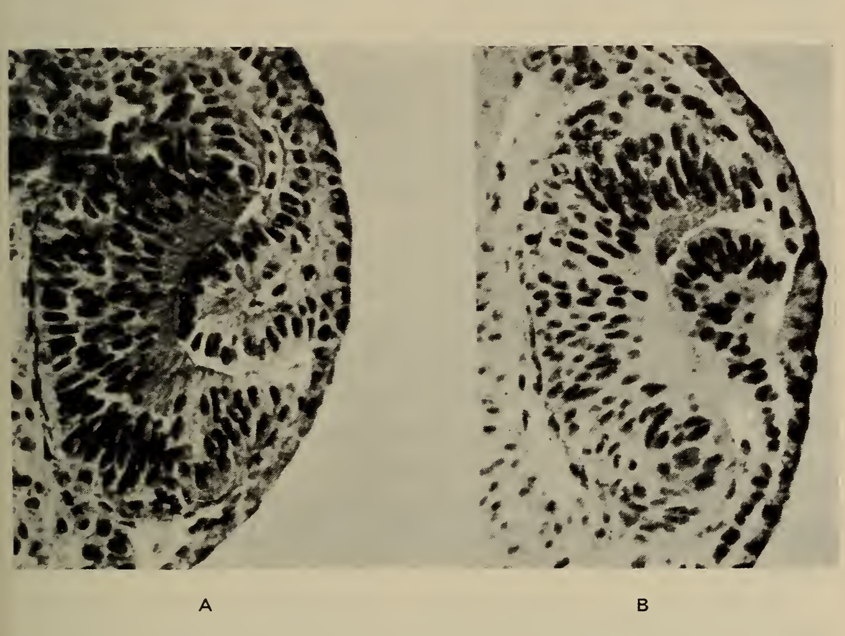


ABB. 1 *a*.
Methylgrün-Pyroninfärbung.

ABB. 1 *b*.
Die gleiche Färbung nach Behandlung des Schnittles mit kristallisierter Ribonuklease 1:10 000 während 1 Std. bei 60°.

Eine sehr schöne und eindrückliche Bestätigung dieser Befunde erhält man, wenn man das Verhalten der Nukleinsäuren während der Augenentwicklung bei Amphibien verfolgt. Wir arbeiteten mit Keimen von *Triton alpestris* und von *Pleurodeles Waltlii*. Bei beiden konnten wir die gleichen Befunde erheben. Die Keime wurden in Carnoy fixiert und die Nukleinsäuren in den Schnitten mit Hilfe der Methylgrün-Pyroninfärbung zur Darstellung gebracht. Die Spezifität der Pyroninfärbung prüften wir mit kristallisierter Ribonuklease (Abb. 1 *a*, *b*).

I. Die Verteilung der Nukleinsäuren in der Einzelzelle.

A. Arbeitszelle: In der hochprismatischen Zelle der Augenblase sieht man bei sehr starker Vergrösserung an der Oberfläche ein relativ grobmaschiges Netz, dessen Fäden aus pyroninaffinen Granula bestehen. Das Netz umspinnt einen Teil der Dotterkörner und den Zellkern. Es ist an beiden Enden der Zellen dichter als im Zwischenstück, in welchem der Kern liegt. In den meisten Kernen findet man einen bis mehrere Nukleolen, die als homogene, mit Pyronin intensiv rot gefärbte Kugeln erscheinen. An die Granula und die Nukleolen ist reichlich RNS angelagert, wie die Pyroninfärbung verrät. Mit Ribonuklease werden sie vollständig entfärbt.

Wenn sich in spätern Stadien der Augenentwicklung die RNS vermehrt, nimmt nicht die Grösse, sondern die Zahl der Granula zu. Möglicherweise vermehren sich die in ihnen enthaltenen Fermente im gleichen Mass wie die RNS. Die Maschen des Oberflächennetzes werden zahlreicher und enger, die einzelnen Fäden durch doppelte oder mehrfache Granulaketten gebildet.

Die Thymo- oder Desoxyribosenukleinsäure findet sich nur im Kern. Sie ist in Form von unregelmässigen Schollen oder Flocken verteilt.

B. Mitose: Während des Teilungsvorganges ist das granulierte Oberflächennetz in der kugeligen Zelle nicht mehr zu erkennen. Es liegen jedoch zahlreiche mit RNS beladene Granula in der Zelle, besonders zwischen den Spindelfasern. Diese Granula sind deutlich grösser als jene, welche das Netz in der Arbeitszelle aufbauen. Ihre Zahl beträgt jedoch nur einen Bruchteil derjenigen in der Arbeitszelle. An die dünnen, gerade gestreckten Spindelfasern ist ebenfalls RNS angelagert. Sie färben sich deshalb mit Pyronin ziemlich intensiv rot.

II. Das Verhalten der Nukleinsäuren im Auge während der Entwicklung.

In der Augenblase (Abb. 2 *a*) findet man die RNS-Granula hauptsächlich entlang den Zellgrenzen. Das Oberflächennetz ist in

den einzelnen Zellen weitmaschig. Die Verhältnisse stimmen genau mit denen im Gehirn überein.

Bei der Umwandlung der Augenblase in den Augenbecher (Abb. 2 *b*) nimmt die RNS hauptsächlich an den Zellenden zu. Die Linsenbildung zeigt sich durch Verschwinden des Pigmentes aus der innern Epidermisschicht an. Beide Epidermisschichten weisen aber zunächst noch denselben RNS-Gehalt auf. In der weitern Entwicklung (Abb. 2 *c*, *d*) nimmt die RNS im Augenbecher besonders in jenen Teilen zu, welche der Linse zugewandt sind. In diesen mittleren Abschnitten des Augenbechers findet in diesem Zeitpunkt auch das stärkste Wachstum statt. Dadurch wird er ausgeweitet und auf diese Weise für die rasch wachsende Linse der nötige Raum geschaffen.

Die linsenbildenden Epidermiszellen werden höher, während gleichzeitig ihr Gehalt an RNS ansteigt. Im Linsenbläschen erscheint ein deutliches Konzentrationsmaximum im Zentrum.

Es wäre möglich, dass zwischen RNS-Synthese und Linseninduktion ein Zusammenhang besteht, wie dies BRACHET schon für die Neuralinduktion vermutet hat. Strenge Beweise dafür fehlen aber.

Sobald sich das Linsenbläschen vollständig von der Epidermis abgelöst hat, wird die RNS-Synthese sowohl in der Linse, als auch im Augenbecher stark intensiviert. Gleichzeitig geht auch das Wachstum beschleunigt weiter.

Bald setzen nun aber die Differenzierungsprozesse ein. Diese beginnen am Grund des Augenbechers, wo die Zellen ihren RNS-Gehalt einbüssen (Abb. 2 *e*). Sie setzen sich nach dem Augenbecherrand zu fort, was durch ein fortschreitendes Verschwinden der RNS gekennzeichnet ist (Abb. 2 *f*). Im bereits funktionstüchtigen Auge enthält die differenzierte Retina keine RNS mehr, mit Ausnahme der hintersten Schicht, der Stäbchen und Zapfen. Hier treten besonders um den Kern erneut beträchtliche Mengen von RNS auf. Sie werden wohl eine ähnliche Bedeutung haben wie in andern Nervenzellen. Wesentliche Wachstumsvorgänge finden nur noch im Augenbecherrand statt, wo sich die Iris entwickelt. Hier sind die Zellen noch undifferenziert und sehr reich an RNS.

Das Linsenepithel zeichnet sich in diesem Stadium durch einen relativ grossen Gehalt an RNS aus. Die intensive Färbung der Linsenfasern lässt sich mit Nuklease nicht völlig entfernen.

Offenbar sind neben RNS noch andere Substanzen in sie eingelagert, die möglicherweise eine nukleinsäureähnliche Struktur besitzen, sodass sie sich mit Pyronin anfärben. Dasselbe gilt auch für die Knorpelgrundsubstanz. Diese färbt sich mit Pyronin ebenfalls intensiv rot, ohne durch Ribonuklease entfärbt zu werden. Vielleicht ist die Chondroitinschwefelsäure dafür verantwortlich.

Verfolgt man das Verhalten der Nukleolen durch die ganze Entwicklungsreihe, so stellt man fest, dass sie zunächst an Zahl und Grösse zunehmen bis zu einem Stadium das etwa der Abb. 2 *d* entspricht. Von hier an nehmen sie ab, während die RNS im Plasma noch kurze Zeit weiter zunimmt. Eine vollkommene Parallelität zwischen Nukleolen u. Plasma, wie sie Caspersson bei andern Zellen fand, besteht hier also nicht.

Nach Untersuchungen von Hydén (1943) und theoretischen Erwägungen von Caspersson werden im Kern unter Kontrolle des Heterochromatins Histone gebildet und im Nukleolus gespeichert. Von hier wandern sie gegen die Kernmembran aus wo sie die Synthese von RNS anregen. Diese ermöglicht ihrerseits den Aufbau der Plasmaproteine. Falls diese Vorstellung richtig ist, kann man sich das Verhalten der Nukleolen im Augenbecher folgendermassen erklären: Die Eiweissproduktion würde im Kern zuerst eingestellt. Die gespeicherten Stoffe würden aber unter allmählichem Verschwinden der Nukleolen weiter ans Plasma abgegeben, sodass dort die Wachstumsvorgänge noch weiter gehen können. Erst wenn die Vorräte im Kern erschöpft sind, würde der RNS-Gehalt im Plasma abnehmen und die Differenzierung eingeleitet. Die ersten Differenzierungserscheinungen würden somit im Kern auftreten.

Zusammenfassung:

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen den schon mehrfach erhobenen Befund, dass Zellen mit intensivem Wachstum in ihrem Plasma sehr viel Ribosenukleinsäure aufweisen. Mit dem Einsetzen der Differenzierung nimmt die RNS ab. Die Nukleolen verschwinden schon etwas früher. Es wird die Vermutung ausgesprochen, dass die Differenzierung mit dem Einstellen der Histonproduktion im Kern eingeleitet wird.

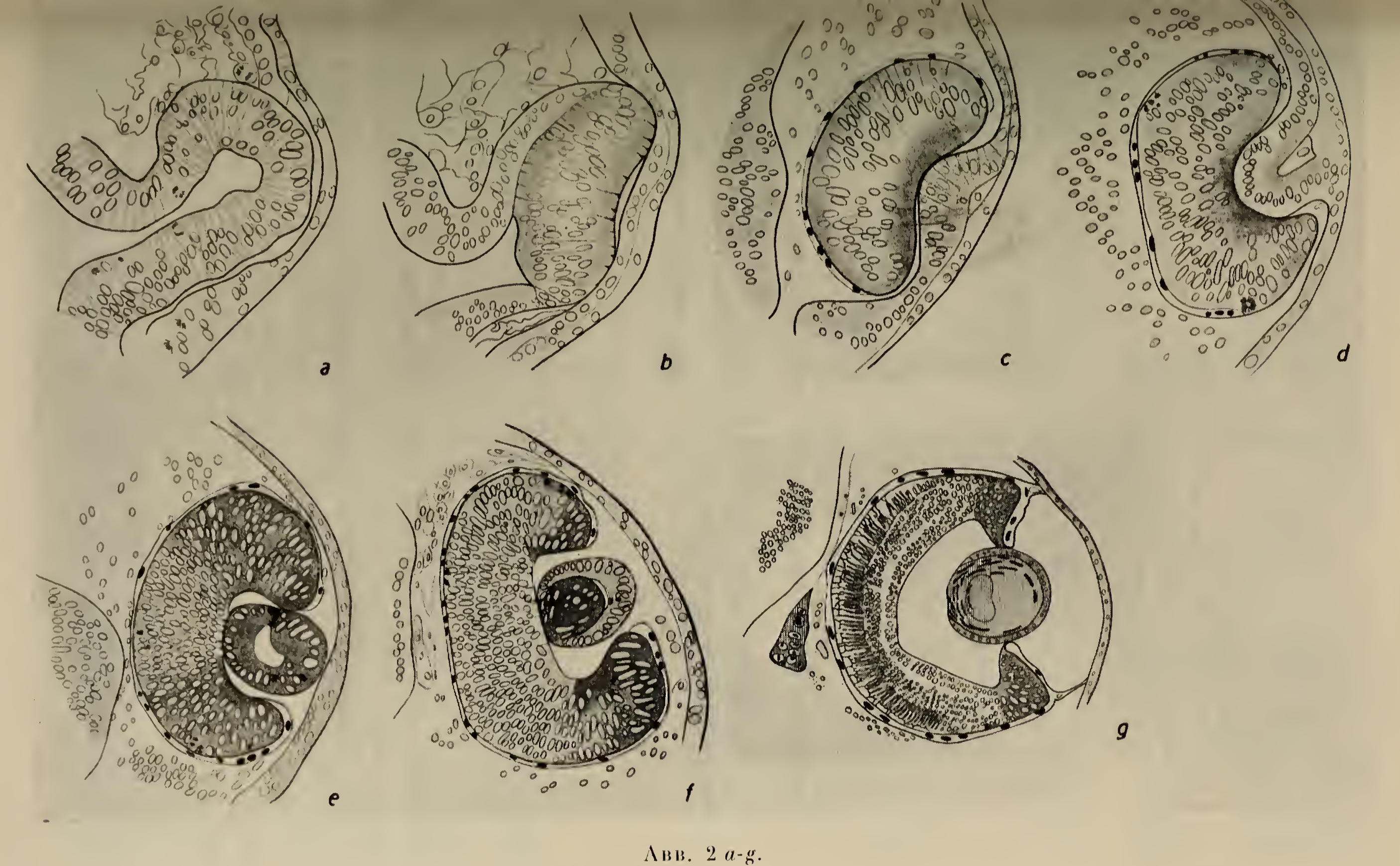


Abb. 2 *a-g*.

Schummerung = Verteilung der Ribonukleinsäure.
Schraffiert = Strukturen, die sich mit Pyronin anfärben ohne durch Ribonuklease entfärbt zu werden.
Schwarze Kerne = Kerne des Pigmentepithels.

LITERATUR

BRACHET, J. *Acidi nucleici, proteine e differenziamento*, Turin 1949. Embryologie chimique, 1944.

CASPERSSON, T. *Chromosoma*. 1, 1940; ferner: zit. nach BRACHET: Embr. chim. 1944.

—— und THORELL, B. *Chromosoma*, 2, 1941.

HYDÉN, H. Z. mikr. anat. Forsch. 54, 1943.

NOVIKOFF, A. und POTTER, V. J. biol. Chem. 173, 1948.

Nº 22. **A. Bretscher**, Bern. — Vergleich der Beinentwicklung von vier Hühnerrassen nach Colchicinbehandlung. (Mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen.)

(Aus dem Dept. of Genetics of the University of Connecticut (U.S.A.) und der Abt. für Zoophysiologie des Zoologischen Institutes der Universität Bern.)*

I. FRAGESTELLUNG.

Die 4 von mir untersuchten Hühnerrassen unterscheiden sich hauptsächlich durch die Morphologie ihrer Beine. Um einen Einblick in die Entstehung dieser Unterschiede zu erhalten, wurden die jungen Beinknospen, die sich auf diesem Stadium bei allen Rassen äusserlich noch gleichen, mit dem Antimitoticum Colchicin behandelt, das zahlreiche teilungsbereite Zellen ausschaltet. Diese Methode der genetischen Entwicklungsphysiologie könnte Auskunft geben über Art und Zeitpunkt der rassenspezifischen Entwicklungsunterschiede, insbesondere dann, wenn diese auf Zellteilungsvorgängen beruhen. Ausserdem wäre es möglich, festzustellen, ob das Colchicin in verschiedenem genetischen Milieu verschieden wirkt,

* Teilweise ausgeführt mit Arbeitsbeschaffungsbeiträgen des Bundes zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.
Teil einer Arbeit, die im November 1950 mit einem Preis der naturwissenschaftlich-philosophischen Fakultät der Universität Bern ausgezeichnetwurde.